FICHE TECHNIQUE

BOUILLON EC

DETECTION ET DENOMBREMENT DES *ESCHERICHIA COLI* BK162HA

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon EC (abréviation pour *Escherichia coli*) est un milieu utilisé comme deuxième milieu sélectif dans le cadre des recherche et dénombrement des *Escherichia coli* présumés dans les eaux, le lait, les autres produits alimentaires, et plus particulièrement dans les coquillages vivants.

2 HISTORIQUE

En 1943, le milieu a été formulé par Hajna, Perry et Darby pour la détection des coliformes et plus particulièrement d'*Escherichia coli* dans les produits alimentaires. Ces auteurs avaient analysé les résultats obtenus dans 11 laboratoires ayant contrôlé une grande variété de prélèvements d'eaux, de laits, de coquillages. Les résultats obtenus avaient montré la très grande spécificité du milieu vis-à-vis des coliformes. En 1964, Fishbein et Surkiewicz ont utilisé le bouillon EC pour la confirmation des *Escherichia coli* dans des produits surgelés et des « nutmeats ». Ils trouvèrent que ce test était optimal lorsque l'incubation était limitée à une durée de 24 heures à 45,5 °C.

3 PRINCIPES

Le milieu correspond à du bouillon lactosé tamponné, additionné de sels biliaires dont l'action est d'inhiber le développement des bactéries sporulées et des entérocoques, tout en favorisant la croissance des *Escherichia coli.*

Le développement des coliformes et notamment des *Escherichia coli* se manifeste par l'apparition d'une turbidité associée à une production de gaz dans la cloche de Durham par suite de la fermentation du lactose.

4 PREPARATION

- Mettre en suspension 37,0 g de milieu déshydraté (BK162) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir à raison de 10 mL par tube contenant une cloche de Durham.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Après refroidissement, les cloches de Durham ne doivent pas contenir d'air.

✓ **Reconstitution :**
37,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

5 MODE D'EMPLOI

- A partir de chaque tube de milieu d'enrichissement sélectif (BK010) présentant une opacité, un trouble ou un dégagement gazeux, ensemencer avec une anse un tube de bouillon EC.
- Incuber dans un bain d'eau thermostaté pendant 24 heures ± 2 heures à 44 °C. En absence de dégagement gazeux, prolonger l'incubation jusqu'à 48 heures ± 2 heures.

✓ **Ensemencement :**
Une öse d'inoculum

✓ **Incubation :**
24 h à 48 h à 44 °C

Note : Pour d'autres utilisations, se reporter au référentiel en vigueur.

6 LECTURE

Après incubation, observer la production de gaz dans les cloches de Durham.
A partir de chaque tube de bouillon EC présentant un dégagement gazeux, effectuer une recherche de la production d'indole dans l'eau peptonée exempte d'indole (BK084).
Considérer comme positif chaque tube de bouillon EC présentant un dégagement gazeux associé à une production d'indole en eau peptonée exempte d'indole.
Faire la numération en utilisant la méthode du "nombre le plus probable".

7 FORMULE-TYPE

Cette formule-type peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ..... 20,00 g
- Lactose ..... 5,00 g
- Sels biliaires n°3 ..... 1,50 g
- Phosphate dipotassique ..... 4,00 g
- Phosphate monopotassique ..... 1,50 g
- Chlorure de sodium ..... 5,00 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 6,8 ± 0,2.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-cassé, fluide et homogène.

Milieu préparé : solution ambre claire, limpide.

Réponse culturale typique après 24 heures et 48 heures d'incubation à 44 °C (ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance
Escherichia coli	WDCM 00013	Bonne, score 2
Escherichia coli	WDCM 00012	Bonne, score 2
Escherichia coli	WDCM 00179	Bonne, score 2
Enterococcus faecalis	WDCM 00087	Inhibée
Staphylococcus aureus	WDCM 00034	Inhibée
Pseudomonas aeruginosa	WDCM 00025	Inhibée

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.
Milieu préparé en tubes : 6 mois à 2-8 °C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif). *

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :
Flacon de 500 g BK162HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hajna, A.A., and Perry, C.A. 1943. Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of the coliform group and for fecal streptococci. Am. J. Public Health, 33: 550-556.

Fishbein M.A, and Surkiewicz B.F.. 1964. Comparison of the recovery of *Escherichia c*oli from frozen food and nutmeatsby confirmatory incubation in EC-medium at 44.5 and 45.5°C. Appl. Microb., **12**: 127-131.

NF ISO 7251 (V 08-020). Juillet 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement d'*Escherichia coli* présumés. Technique du nombre le plus probable.

12 AUTRES INFORMATIONS

* Valeur indicative obtenue dans les conditions standards du laboratoire et suivant les instructions du fabricant.

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BK162/FR/2003-09 : 5.
Date création : 09-2000
Date de révision : 09-2014
Motif de révision : Révision générale (§ 5 : Mode d'emploi ; § 6 : Lecture ;
§ 8 : Contrôle qualité ; § 11 : Références bibliographiques)